

植物-土壤反馈对刺五加幼苗次生代谢产物的影响

金司阳¹, 刘寒¹, 杨立学², 王谦博³, 徐明远¹, 李俊萍¹, 王振月^{1*}

(1. 黑龙江中医药大学药学院, 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学林学院, 哈尔滨 150040;
3. 广东药科大学附属第一医院, 广州 510080)

[摘要] **目的:** 研究植物-土壤反馈对刺五加幼苗根、茎、叶次生代谢产物的影响。**方法:** 通过温室盆栽试验, 分别对未种植过刺五加的土壤(1组), 连续3年种植刺五加的土壤(2组)和多年种植刺五加的土壤(3组), 分别种植刺五加1年生幼苗, 并对其根、茎、叶的次生代谢产物进行分析。**结果:** *L*-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素在多年生长刺五加土壤种植, 对刺五加幼苗叶和根均有显著性差异, 但在茎中绿原酸和刺五加苷 E 无显著性差异。其中刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁和金丝桃苷在多年生刺五加土壤种植的幼苗叶中未检出。在刺五加幼苗的根中, 多数次生代谢产物呈现正反馈; 在刺五加幼苗的茎中, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 金丝桃苷, 槲皮素呈现负反馈; 在刺五加幼苗的叶中多数次生代谢产物呈现正反馈。**结论:** 植物和土壤在刺五加幼苗生长过程不同部位呈现出不同的反馈情况, 整体而言, 未种植过刺五加的土壤对刺五加幼苗的次生代谢产物更具优势。研究结果为阐述植物-土壤反馈对刺五加的影响提供研究基础, 并为人工栽培刺五加提供了理论依据和技术支持。

[关键词] 刺五加; 次生代谢; 植物-土壤反馈; 幼苗; 根; 茎; 叶

[中图分类号] R284.2; R289; R22; R2-031 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)04-0167-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200413

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20191107.1134.003.html>

[网络出版时间] 2019-11-07 14:20

Effect of Plant-Soil Feedback on Secondary Metabolites of *Acanthopanax senticosus* Seedlings

JIN Si-yang¹, LIU Han¹, YANG Li-xue², WANG Qian-bo³, XU Ming-yuan¹,
LI Jun-ping¹, WANG Zhen-yue^{1*}

(1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China;

3. The First Affiliated Hospital, School of Clinic Medicine of Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510080, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of plant-soil feedback on secondary metabolites in roots, stems and leaves of *Acanthopanax senticosus* seedlings. **Method:** One-year-old seedlings of *A. senticosus* were planted in the soil where no *A. senticosus* had been planted before (group 1), soil where *A. senticosus* had been planted for 3 years (group 2), and soil where *A. senticosus* had been planted for many years in the greenhouse pot experiment, and the secondary metabolites of its roots, stems and leaves were then analyzed. **Result:** *L*-Phenylalanine, 3, 4-dihydroxybenzoic acid, syringin, chlorogenic acid, caffeic acid, eleutheroside E, isofraxidin, rutin, hyperoside, and quercetin had significant differences in leaves and roots of *A. senticosus*

[收稿日期] 20190504(011)

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2016YFC0500303); 国家科技重大专项和重点研发项目省级项目(GX17C006); 黑龙江中医药大学研究生创新科研项目(2018年)

[第一作者] 金司阳, 在读博士, 从事中药资源研究, E-mail: jsy_0451@126.com

[通信作者] *王振月, 教授, 从事中药资源开发与生物技术研究, E-mail: wangzhen_yue@163.com

seedlings in the soil of group 3, but there was no significant difference in chlorogenic acid and eleutheroside E in stem. Eleutheroside E, isofraxidin, rutin and hyperoside were not detected in the leaves of seedlings planted in group 3. Most of the secondary metabolites in the roots of *A. senticosus* seedlings showed positive feedback, while in the stems of *Acanthopanax senticosus* seedlings, caffeine, *A. senticosus* glycosides, hypericin and quercetin showed negative feedback, and most of the secondary metabolites in the leaves of *A. senticosus* seedlings showed positive feedback. **Conclusion:** The plant and soil showed different feedback in different parts of the growth process of *A. senticosus* seedlings, and the soil where *A. senticosus* had not been planted was more advantageous to the secondary metabolites of *A. senticosus* seedlings. The results of the study provide a basis for the study of the effect of plant-soil feedback on the *A. senticosus*, and provide the theoretical basis and technical support for the artificial cultivation of *A. senticosus*.

[Key words] *Acanthopanax senticosus*; secondary metabolism; plant-soil feedback; seedlings; roots; stems; leaves

刺五加是五加科五加属多年生木本植物,具有益气健脾,补肾安神的功效^[1]。2015 年版《中国药典》记载干燥的根和根茎或茎为刺五加的药用部位^[2]。广泛分布于黑龙江、吉林地区的长白山脉和小兴安岭等地区^[3-4]。由于药用植物是中药的主要来源,而植物受生物学因素或非生物学因素所形成的植物次生代谢物是其有效成分的物质基础,也是发现药物作用的物质基础及发现新药的重要来源^[5-6]。植物-土壤反馈可以对植物个体产生巨大的变化^[7]。因此,在人工种植刺五加的过程中,研究植物-土壤反馈对刺五加幼苗的次生代谢产物变化情况对刺五加成品药材的质量控制有着重要的意义。

植物-土壤反馈是指植物改变根际土壤的生物和非生物特征,同时改变植物生长,从而影响植物群落组成及植物间的相互作用^[8]。该过程可能改变植物的物质分布^[9]。同样的,中药质量是中药临床疗效的保障,是中药产业发展的生命线^[10-11],中药质量标记物(Q-marker)更是与植物次生代谢产物有着紧密的联系,可以说植物幼苗质量直接影响着成品药材的质量。然而,在对刺五加的植物-土壤反馈和次生代谢产物相结合的研究并不多见。

本文从植物-土壤反馈角度出发,通过盆栽试验初步模拟植物-土壤反馈对刺五加幼苗的影响,系统分析比较植物-土壤反馈对刺五加幼苗次生代谢产物的影响,从而希望在一定程度上阐明多年种植刺五加的土壤对刺五加幼苗质量的影响^[12]。进而加深刺五加的植物-土壤反馈研究深度,并为农田栽培刺五加技术标准提供理论依据和技术支持。

1 材料

2018 年 5 月初,在伊春红星林业局中心苗圃选

取连续 3 年种植刺五加的农田、黑龙江中医药大学药园选取连续多年种植刺五加的地块和未种植过刺五加的地块,分别收集表层土壤 50 kg,去除枯枝落叶和碎石等杂质,用于温室盆栽实验。

2018 年 5 月初,在伊春红星林业局中心苗圃选取长势一致的刺五加 1 年生幼苗,带回黑龙江中医药大学药园温室进行移栽。植株经黑龙江中医药大学王振月教授鉴定为刺五加 *Acanthopanax senticosus*。

E2695 型高效液相色谱仪(Waters 公司), AE240 Mettler 型 1/10 万分析天平(德国梅特勒-托利多国际有限公司),KM-822C 型超声波清洗器(频率 480 W 功率 40 kHz,广州市科洁盟实验仪器有限公司)。

刺五加苷 E,原儿茶酸,槲皮素,绿原酸,金丝桃苷,芦丁,L-苯丙氨酸,咖啡酸,异嗪皮啶,刺五加苷 B(上海源叶生物生物科技有限公司,批号分别为 W11J7K8869, Z30M6L1, C20J6Y1722, Y24J7K16726, Y04A9X62302, Y06J8S37439, J04J7R8481, Y17D6C7672, Y12J7S17732, Y28M9H57297, 纯度分别为 $\geq 98\%$, $\geq 98\%$, $\geq 98\%$, $\geq 98\%$, $\geq 98\%$, $\geq 98\%$, $\geq 99\%$, $\geq 98\%$, $\geq 99\%$, $\geq 98\%$);乙腈(GradeDikmaPure 公司,批号 R141434,色谱纯),蒸馏水实验室自制。

2 方法

2.1 试验设计 以收集的多年栽培刺五加的土壤和未栽培过刺五加的土壤为栽培基质,分别去除表面的枯枝落叶和碎石后,选取长势一致的刺五加 1 年生幼苗,分别移栽到装有黑龙江中医药大学药园采集的未种植过刺五加的土壤(1 组)、伊春红星林业局中心苗圃采集的连续 3 年生长刺五加的土壤

(2 组), 黑龙江中医药大学药园采集的多年生长刺五加的土壤(3 组), 共计 3 组, 每组 12 盆, 共计 36 盆。所有盆放置在黑龙江中医药大学温室中, 每周随机调换位置, 每周浇水一次, 温室栽培 5 个月后, 刺五加幼苗全株收获, 用自来水冲净后, 用滤纸吸干表面水分, 将植株根、茎、叶分开, 然后放入 35 ℃ 的烘箱中烘干, 即可。

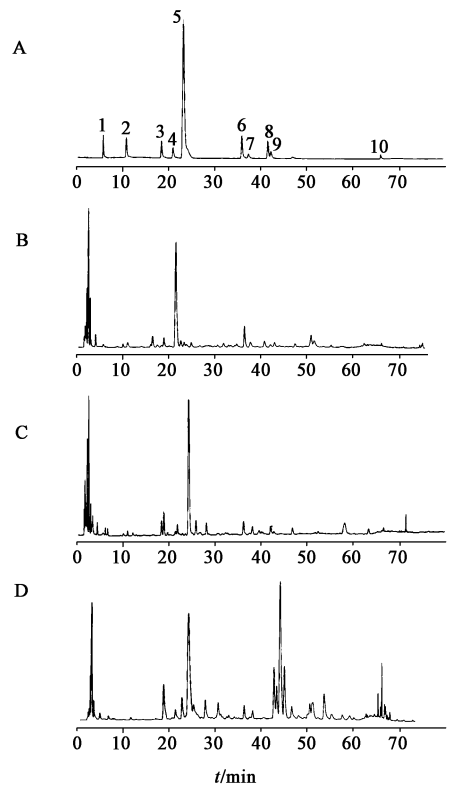
2.2 色谱条件 Symmetry C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 5 μm); 流动相乙腈(A)-0.2% 磷酸水(B), 梯度洗脱(0 ~ 3 min, 4.5% ~ 5.4% A; 3 ~ 50 min, 5.4% ~ 20.7% A, 50 ~ 60 min, 20.7% ~ 24% A, 60 ~ 70 min, 24% ~ 50% A); 柱温 20 ℃; 体积流量 0.8 mL·min⁻¹; 检测波长 210 nm; 进样体积 10 μL^[13-14]。

2.3 混合对照品溶液制备 精密称取 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素适量, 加甲醇(刺五加苷 E 和金丝桃苷对照品先加 50% 甲醇溶解) 制成 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素质量浓度分别为 0.020 4, 0.045 6, 0.270 7, 0.374 4, 1.188 5, 0.039 3, 0.043 7, 0.695 0, 0.136 9, 0.065 5 g·L⁻¹ 的混合对照品溶液。

2.4 供试品溶液制备 取采集的刺五加植物样品, 35 ℃ 烘干后, 粉碎, 过 40 目筛。取样品粗粉约 2 g, 精密称定, 置于具塞锥形瓶中, 精密加入 50% 甲醇 25 mL, 称定质量, 超声处理(功率 480 W, 频率 40 kHz) 30 min, 放冷。再次称定质量, 用 50% 甲醇补足损失的质量, 摇匀, 经 0.45 μm 微孔滤膜滤过, 取续滤液, 即得供试品溶液。

2.5 系统适用性试验 取上述混合对照品溶液、供试品溶液各适量, 按上述色谱条件进样测定, 记录色谱图。计算结果显示 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素组分的理论板数均高于 3 000, 分离度均 > 1.15, 各成分基线分离良好。混合对照品及供试品色谱见图 1。

2.6 线性关系考察 分别精密吸取混合对照品溶液 0.5, 2, 4, 6, 8, 10 mL 定容至 10 mL, 并在上述色谱条件下测定, 以刺五加苷 B 为参考峰, 以刺五加苷 B 相应的峰为参比峰(S 峰), 计算其他对照品峰与参比峰的相对保留时间, 记录色谱图。以对照品质量浓度为横坐标(X), 峰面积为纵坐标(Y), 对 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸,



A 混合对照品溶液; B 根; C 茎; D 叶

图 1 刺五加不同部位 HPLC

Fig. 1 HPLC of different part of *Acanthopanax senticosus*

刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素进行线性回归计算。绘制 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素的标准曲线。见表 1。

2.7 重复性试验 分别取刺五加根、茎、叶各 6 份, 在上述条件下测定含量, 并计算 RSD。测得刺五加幼苗中根、茎、叶中 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素的 RSD, 见表 2。

2.8 精密度试验 分别取同一对照品溶液, 在上述色谱条件下连续进样 6 次, 记录峰面积, 其中 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素的 RSD 分别为 1.0%, 1.5%, 1.2%, 1.9%, 1.8%, 1.2%, 1.9%, 1.9%, 1.5%, 2.0%。

2.9 稳定性试验 取同一供试品溶液, 室温下放置, 分别在 0, 2, 4, 6, 8, 24, 48 h 后进样分析, 按上述色谱条件进行测定, 记录峰面积。刺五加幼苗中根茎叶中 L-苯丙氨酸, 原儿茶酸, 刺五加苷 B, 绿原酸, 咖啡酸, 刺五加苷 E, 异嗪皮啶, 芦丁, 金丝桃苷, 槲皮素的峰面积 RSD 分别为 1.4%, 1.2%, 1.3%, 1.9%, 1.0%, 1.0%, 1.5%, 0.4%, 0.5%, 1.2%。

表 1 线性方程

Table 1 Regression equation and linear range

| No. | 名称 | 线性方程 | R ² | 线性范围/g·L ⁻¹ |
|-----|--------|---|----------------|------------------------|
| 1 | L-苯丙氨酸 | $Y = 2.7439 \times 10^7 X - 2.9717 \times 10^5$ | 0.999 3 | 0.001 0 ~ 0.020 4 |
| 2 | 原儿茶酸 | $Y = 6.0702 \times 10^6 X - 1.2348 \times 10^5$ | 0.999 4 | 0.002 3 ~ 0.045 6 |
| 3 | 刺五加苷 B | $Y = 1.6817 \times 10^6 X - 1.8010 \times 10^5$ | 0.999 0 | 0.013 5 ~ 0.270 7 |
| 4 | 绿原酸 | $Y = 2.2317 \times 10^6 X - 3.3019 \times 10^5$ | 0.999 7 | 0.018 7 ~ 0.374 4 |
| 5 | 咖啡酸 | $Y = 3.8485 \times 10^6 X - 1.6485 \times 10^6$ | 0.999 3 | 0.059 4 ~ 1.188 5 |
| 6 | 刺五加苷 E | $Y = 7.9419 \times 10^6 X - 1.3225 \times 10^5$ | 0.999 6 | 0.002 0 ~ 0.039 3 |
| 7 | 异嗪皮啶 | $Y = 7.6611 \times 10^6 X - 1.5817 \times 10^5$ | 0.999 7 | 0.002 2 ~ 0.043 7 |
| 8 | 芦丁 | $Y = 2.8247 \times 10^6 X - 9.4298 \times 10^5$ | 0.999 1 | 0.034 8 ~ 0.695 0 |
| 9 | 金丝桃苷 | $Y = 6.1917 \times 10^6 X - 4.6346 \times 10^5$ | 0.999 8 | 0.006 8 ~ 0.136 9 |
| 10 | 槲皮素 | $Y = 8.3587 \times 10^6 X - 3.5931 \times 10^5$ | 0.999 0 | 0.003 3 ~ 0.065 5 |

表 2 重复性试验 RSD (n=6)

Table 2 Repeatability test RSD (n=6)

| No. | 名称 | 根 | | 茎 | | 叶 | |
|-----|--------|-------------------------|-----|-------------------------|-----|-------------------------|-----|
| | | 质量分数($\bar{x} \pm s$) | RSD | 质量分数($\bar{x} \pm s$) | RSD | 质量分数($\bar{x} \pm s$) | RSD |
| 1 | L-苯丙氨酸 | 0.028 2 ± 0.000 4 | 1.0 | 0.027 5 ± 0.000 2 | 1.5 | 0.020 1 ± 0.000 2 | 0.8 |
| 2 | 原儿茶酸 | 0.078 2 ± 0.001 6 | 1.6 | 0.158 9 ± 0.003 1 | 2.1 | 0.071 3 ± 0.001 2 | 1.9 |
| 3 | 刺五加苷 B | 1.960 0 ± 0.033 3 | 1.1 | 0.849 5 ± 0.010 9 | 1.7 | 0.372 9 ± 0.004 3 | 1.3 |
| 4 | 绿原酸 | 1.693 2 ± 0.017 2 | 0.7 | 1.056 5 ± 0.018 9 | 1.0 | 2.291 8 ± 0.017 0 | 1.8 |
| 5 | 咖啡酸 | 3.457 6 ± 0.060 1 | 1.1 | 1.356 0 ± 0.029 4 | 1.7 | 1.020 8 ± 0.011 4 | 2.2 |
| 6 | 刺五加苷 E | 0.139 8 ± 0.002 9 | 1.4 | 0.035 5 ± 0.000 7 | 2.0 | 0.400 5 ± 0.005 6 | 2.0 |
| 7 | 异嗪皮啶 | 0.123 9 ± 0.001 4 | 1.7 | 0.039 0 ± 0.000 4 | 1.1 | 0.066 5 ± 0.001 1 | 1.1 |
| 8 | 芦丁 | 1.142 0 ± 0.012 4 | 0.2 | 0.458 6 ± 0.001 9 | 1.1 | 0.458 4 ± 0.000 9 | 0.4 |
| 9 | 金丝桃苷 | 0.223 7 ± 0.004 2 | 0.7 | 0.101 8 ± 0.000 1 | 1.9 | 0.108 4 ± 0.000 7 | 0.1 |
| 10 | 槲皮素 | 0.072 8 ± 0.000 9 | 0.2 | 0.139 1 ± 0.002 6 | 1.3 | 0.065 4 ± 0.000 1 | 1.9 |

2.10 加样回收率试验 取已测定的同一批样品,根茎叶各 6 份,精密称定,分别加入适量 L-苯丙氨酸,原儿茶酸,刺五加苷 B,绿原酸、咖啡酸,刺五加苷 E,异嗪皮啶,芦丁,金丝桃苷,槲皮素对照品,每次进样 10 μL 进行测定。计算刺五加幼苗中根茎叶中 10 个成分平均回收率,结果见表 3。

2.11 样品测定 取生物量测定后的烘干刺五加幼苗的根、茎、叶,按照供试品溶液制备方法制备供试品溶液,按上述色谱条件测定,并计算各组刺五加幼苗的次生代谢产物 L-苯丙氨酸,原儿茶酸,刺五加苷 B,绿原酸,咖啡酸,刺五加苷 E,异嗪皮啶,芦丁,金丝桃苷,槲皮素的含量。

2.12 数据处理 试验数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行统计分析,通过主成分分析,反映植物-土壤反馈中次生代谢产物的综合含量差异。同时利用单因素方差分析(One-way ANOVA)对数据进行分析。根据方差分析结果采用邓肯法(Duncan)对数据进行多重比较,并利用 Origin2018 软件作图。最后利用 R 语言进行聚类分析,用聚类热图反映出植物-土壤反馈中次生代谢产物的分布情况^[15]。

3 结果与分析

3.1 植物-土壤反馈对刺五加幼苗中次生代谢产物的具体影响 L-苯丙氨酸,原儿茶酸,刺五加苷 B,绿原酸,咖啡酸,刺五加苷 E,异嗪皮啶,芦丁,金丝

表 3 刺五加中 10 个成分的加样回收率试验 (n = 6)

Table 3 Recovery test of 10 components in *Acanthopanax senticosus*

(n = 6)

| No. | 名称 | 部位 | 加样回收率 | 平均加样回收率 | RSD |
|-----|--------|----|-----------------|---------|-----|
| 1 | L-苯丙氨酸 | 根 | 97.43 ~ 102.05 | 100.53 | 1.6 |
| | | 茎 | 97.34 ~ 103.48 | 99.45 | 2.2 |
| | | 叶 | 97.22 ~ 102.00 | 99.02 | 1.5 |
| 2 | 原儿茶酸 | 根 | 97.27 ~ 102.97 | 99.93 | 2.4 |
| | | 茎 | 98.63 ~ 103.35 | 101.67 | 1.9 |
| | | 叶 | 97.46 ~ 102.52 | 100.29 | 1.8 |
| 3 | 刺五加苷 B | 根 | 98.36 ~ 103.10 | 100.07 | 1.7 |
| | | 茎 | 97.64 ~ 102.26 | 99.11 | 1.7 |
| | | 叶 | 99.46 ~ 101.42 | 100.74 | 0.7 |
| 4 | 绿原酸 | 根 | 98.96 ~ 102.75 | 100.90 | 1.4 |
| | | 茎 | 97.32 ~ 102.32 | 100.09 | 1.6 |
| | | 叶 | 98.00 ~ 103.32 | 99.87 | 1.7 |
| 5 | 咖啡酸 | 根 | 97.80 ~ 103.43 | 100.35 | 1.9 |
| | | 茎 | 97.28 ~ 101.41 | 99.52 | 1.7 |
| | | 叶 | 97.84 ~ 102.93 | 99.96 | 1.7 |
| 6 | 刺五加苷 E | 根 | 98.19 ~ 103.30 | 100.80 | 1.6 |
| | | 茎 | 97.70 ~ 101.53 | 99.54 | 1.4 |
| | | 叶 | 101.03 ~ 102.88 | 101.81 | 0.6 |
| 7 | 异嗪皮啶 | 根 | 98.00 ~ 102.67 | 100.66 | 1.5 |
| | | 茎 | 97.09 ~ 100.57 | 98.98 | 1.3 |
| | | 叶 | 97.24 ~ 101.01 | 99.22 | 1.6 |
| 8 | 芦丁 | 根 | 97.15 ~ 101.80 | 99.02 | 1.8 |
| | | 茎 | 98.35 ~ 102.85 | 101.01 | 1.4 |
| | | 叶 | 98.99 ~ 102.87 | 100.54 | 1.6 |
| 9 | 金丝桃苷 | 根 | 99.17 ~ 101.96 | 101.05 | 0.9 |
| | | 茎 | 97.19 ~ 101.73 | 99.13 | 1.6 |
| | | 叶 | 97.15 ~ 102.10 | 99.14 | 1.8 |
| 10 | 槲皮素 | 根 | 97.18 ~ 103.44 | 100.95 | 2.2 |
| | | 茎 | 97.13 ~ 103.04 | 100.14 | 2.0 |
| | | 叶 | 98.25 ~ 99.61 | 99.02 | 0.5 |

桃苷,槲皮素对多年生长刺五加土壤对刺五加幼苗叶和根均有显著性差异,但在茎中绿原酸和刺五加苷 E 无显著性差异。其中刺五加苷 E,异嗪皮啶,芦丁和金丝桃苷在多年生刺五加土壤种植的幼苗叶中未检出。在刺五加幼苗的根中多数次生代谢产物呈现正反馈,即多年种植刺五加的土壤高于未种植过刺五加的土壤。在刺五加幼苗的茎中咖啡酸,刺五

加苷 E,金丝桃苷,槲皮素呈现负反馈,即多年种植刺五加的土壤低于未种植过刺五加的土壤。在刺五加幼苗的叶中多数次生代谢产物呈现正反馈,即多年种植刺五加的土壤低于未种植过刺五加的土壤。见表 4。

3.2 植物-土壤反馈对刺五加幼苗中次生代谢产物的聚类分析 聚类分析结果见图 2,10 种次生代谢产物在植物-土壤反馈的刺五加幼苗中的累积差异为:根中累积差异为 2 类,茎中为 3 类,叶中为 3 类。其中根中未种植过刺五加土壤(1 组)中原儿茶酸、绿原酸和刺五加苷 E 的累积量高于种植过刺五加土壤(2 组,3 组),但其他次生代谢产物的累积量多年种植刺五加的土壤明显高于其他两组。叶中次生代谢产物的累积量未种植过刺五加土壤(1 组)中显著高于其他两组。

3.3 植物-土壤反馈对刺五加幼苗中次生代谢产物的主成分分析 从以上分析结果中可以看出,植物-土壤反馈中不同次生代谢产物的变化不同。为了进一步对实验结果进行分析,本研究采用主成分分析方法对数据进行进一步的分析。通过 SPSS 软件进行主成分分析,用主成分综合得分 Q 值说明植物-土壤反馈对刺五加幼苗根、茎、叶中 10 种主要药用次生代谢产物含量变化的整体趋势。结果表明,植物-土壤反馈中,10 种主要药用次生代谢产物在刺五加幼苗的根、茎、叶显示出不同的积累趋势。其中茎中呈现正反馈,即多年种植刺五加的土壤高于未种植过刺五加的土壤。叶中呈现负反馈,即多年种植刺五加的土壤低于未种植过刺五加的土壤。见表 5。

4 讨论

目前,植物-土壤反馈研究逐渐增加,但试验方法还不太成熟,研究方法比较单一,并且目前对中草药在植物-土壤反馈方面的研究不多,判定植物-土壤反馈作用强度和方向主要通过测定供试种生物量、株高及种子萌发等情况^[16-18]。然而,对于中药而言,药效成分才是临床用药的基础,中药种植更是要以药效成分为目标区别于传统的种植。本文在温室可控的条件下,尝试从植物-土壤反馈角度结合次生代谢产物的含量方法,分析了刺五加幼苗在植物-土壤反馈中的次生代谢产物的变化情况。试验周期较短,只进行了一个生长季节的观察,而次生代谢产物的变化情况也比较复杂,需要进一步的细化研究,如不同月份的连续变化情况、结合生物量、光合作用、土壤微生物、丛枝菌根等生物和非生物的多种因素综合分析,才能更加准确的分析。

表 4 植物-土壤反馈对刺五加幼苗根、茎、叶次生代谢产物的影响($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 4 Effects of plant-soil feedback on secondary metabolites in roots, stems and leaves of *Acanthopanax senticosus* seedlings($\bar{x} \pm s, n = 3$)

mg · g⁻¹

| 部位 | 组别 | L-苯丙氨酸 | 原儿茶酸 | 刺五加苷 B | 绿原酸 | 咖啡酸 |
|----|----|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| 根 | 1 | 0.017 8 ± 0.000 2 ^c | 0.042 2 ± 0.003 3 ^c | 0.539 3 ± 0.211 3 ^b | 1.044 0 ± 0.014 8 ^c | 2.107 0 ± 0.247 1 ^b |
| | 2 | 0.019 5 ± 0.000 6 ^b | 0.069 6 ± 0.002 2 ^a | 0.404 5 ± 0.037 3 ^c | 2.309 6 ± 0.076 6 ^a | 0.991 0 ± 0.040 2 ^c |
| | 3 | 0.023 5 ± 0.000 9 ^a | 0.049 7 ± 0.006 0 ^b | 1.959 0 ± 0.054 0 ^a | 1.198 0 ± 0.052 1 ^b | 3.565 5 ± 0.036 3 ^a |
| 茎 | 1 | 0.017 6 ± 0.002 3 ^b | 0.042 2 ± 0.008 6 ^b | 0.833 9 ± 0.212 3 ^c | 1.352 9 ± 0.128 0 ^{a,b} | 3.550 2 ± 0.391 7 ^a |
| | 2 | 0.023 6 ± 0.002 9 ^b | 0.090 2 ± 0.018 9 ^a | 1.991 0 ± 0.112 4 ^a | 1.464 6 ± 0.240 2 ^a | 2.824 3 ± 0.689 7 ^b |
| | 3 | 0.053 1 ± 0.015 4 ^a | 0.047 2 ± 0.010 6 ^b | 1.274 0 ± 0.015 9 ^b | 1.315 4 ± 0.043 6 ^b | 2.516 1 ± 0.308 9 ^b |
| 叶 | 1 | 0.076 1 ± 0.004 7 ^a | 0.298 1 ± 0.003 1 ^a | 1.130 5 ± 0.078 1 ^a | 1.335 9 ± 0.023 1 ^a | 8.447 6 ± 1.070 0 ^a |
| | 2 | 0.027 7 ± 0.000 3 ^b | 0.150 7 ± 0.013 1 ^b | 0.812 1 ± 0.058 7 ^b | 1.156 0 ± 0.068 9 ^b | 1.361 7 ± 0.056 6 ^b |
| | 3 | 0.020 4 ± 0.001 3 ^c | 0.134 7 ± 0.005 0 ^c | 0.234 8 ± 0.019 3 ^c | 1.001 4 ± 0.009 1 ^c | 1.225 0 ± 0.019 8 ^b |

| 部位 | 组别 | 刺五加苷 E | 异嗪皮啶 | 芦丁 | 金丝桃苷 | 槲皮素 |
|----|----|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 根 | 1 | 0.078 3 ± 0.020 3 ^b | 0.062 8 ± 0.007 4 ^b | 0.649 0 ± 0.024 5 ^b | 0.140 3 ± 0.006 3 ^b | 0.070 3 ± 0.010 1 ^b |
| | 2 | 0.377 5 ± 0.017 7 ^a | 0.064 0 ± 0.003 3 ^b | 0.458 0 ± 0.001 0 ^c | 0.108 3 ± 0.000 6 ^c | 0.065 3 ± 0.000 1 ^b |
| | 3 | 0.084 9 ± 0.005 7 ^b | 0.104 0 ± 0.009 6 ^a | 0.876 4 ± 0.023 2 ^a | 0.209 1 ± 0.009 6 ^a | 0.078 1 ± 0.003 3 ^a |
| 茎 | 1 | 0.135 6 ± 0.032 2 ^a | 0.103 7 ± 0.026 5 ^b | 1.035 2 ± 0.233 0 ^b | 0.197 5 ± 0.061 1 ^a | 0.214 6 ± 0.011 5 ^a |
| | 2 | 0.125 1 ± 0.036 3 ^a | 0.137 7 ± 0.027 0 ^a | 0.772 1 ± 0.242 7 ^c | 0.200 5 ± 0.025 4 ^a | 0.073 9 ± 0.019 9 ^b |
| | 3 | 0.125 0 ± 0.009 3 ^a | 0.141 5 ± 0.012 5 ^a | 1.292 8 ± 0.108 9 ^a | 0.130 6 ± 0.010 4 ^b | 0.077 2 ± 0.004 3 ^b |
| 叶 | 1 | 0.081 9 ± 0.003 5 ^a | 0.089 3 ± 0.003 8 ^a | 0.536 2 ± 0.024 5 ^a | 0.134 6 ± 0.000 3 ^a | 0.157 3 ± 0.013 0 ^a |
| | 2 | 0.036 0 ± 0.000 9 ^b | 0.039 0 ± 0.000 9 ^b | 0.467 9 ± 0.001 7 ^b | 0.103 8 ± 0.000 1 ^b | 0.138 2 ± 0.006 2 ^b |
| | 3 | 未检出 | 未检出 | 未检出 | 未检出 | 0.128 0 ± 0.010 6 ^c |

注:不同小写字母表示 $P < 0.05$ 。

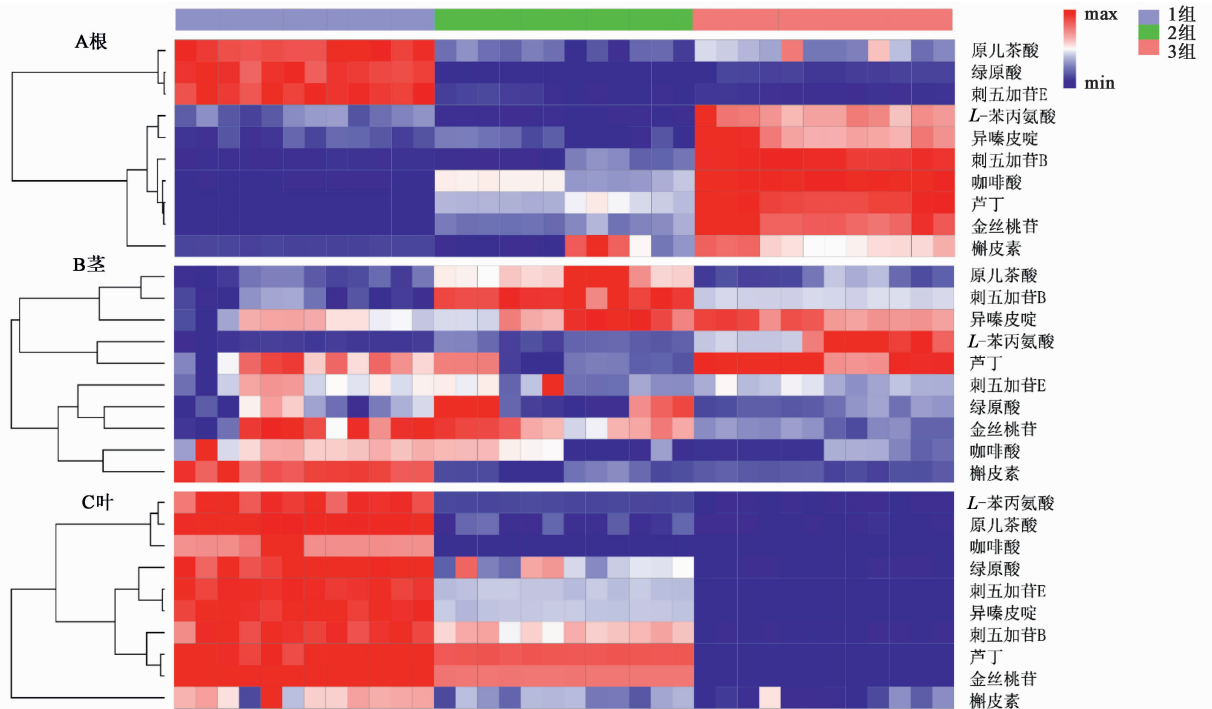


图 2 植物-土壤反馈对刺五加幼苗次生代谢产物的累积情况

Fig.2 Effect of plant-soil feedback on secondary metabolites of *Acanthopanax senticosus* seedlings

表 5 植物-土壤反馈对刺五加幼苗次生代谢产物累积的整体影响 (Q 值) ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 5 Effect of plant-soil feedback on secondary metabolites of *Acanthopanax senticosus* seedlings (Q value) ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

| 部位 | 组别 | Q 值 |
|----|----|--------------|
| 根 | 1 | -0.61 ± 0.28 |
| | 2 | 2.14 ± 0.11 |
| | 3 | 2.75 ± 0.44 |
| 茎 | 1 | -0.98 ± 1.39 |
| | 2 | 0.87 ± 0.42 |
| | 3 | 0.10 ± 0.23 |
| 叶 | 1 | 3.43 ± 0.29 |
| | 2 | 3.43 ± 0.27 |
| | 3 | -3.02 ± 0.20 |

[参考文献]

[1] 《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1978:99.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2015:206-207.

[3] 毕云枫, 朱洪彬, 皮子凤, 等. UPLC-MS/MS 结合多探针底物方法研究刺五加叶中黄酮苷类成分对 CYP450 活性的影响[J]. 高等学校化学学报, 2013, 34(5):1067-1071.

[4] 张爽, 郭盛磊, 王谦博, 等. 刺五加内生真菌诱导子对宿主生长及抗氧化酶系统影响[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(8):1517-1523.

[5] 唐于平, 尚尔鑫, 陈艳琰, 等. 中药质量标志物分级辨识与传递变化规律研究思路与方法[J]. 中国中药杂志, 2019, 44(14):3116-3122.

[6] 刘昌孝. 从中药资源-质量-质量标志物认识中药产业的健康发展[J]. 中草药, 2016, 47(18):3149-3154.

[7] Kardol P, Bezemer T M, Wh V D P. Temporal variation in plant-soil feedback controls succession. [J]. Ecol Lett, 2010, 9(9):1080-1088.

[8] Ehrenfeld J G, Ravit B, Elgersma K. Feedback in the plant-soil system[J]. Annu Rev Environ Resour, 2005, 30(1):75-115.

[9] Dudenhöffer J, Ebeling A, Klein A, et al. Beyond biomass: Soil feedbacks are transient over plant life stages and alter fitness [J]. J Ecol, 2018, 106(1):230-241.

[10] Kulmatiski A, Kardol P. Getting plant-soil feedbacks out of the greenhouse: experimental and conceptual approaches[J]. Progress Bot, 2008, 69:449-472.

[11] 张铁军, 白钢, 刘昌孝. 中药质量标志物的概念、核心理论与研究方法[J]. 药学学报, 2019, 54(2):187-196, 186.

[12] Harrison K A, Bardgett R D. Influence of plant species and soil conditions on plant-soil feedback in mixed grassland communities [J]. J Ecol, 2010, 98(2):384-395.

[13] 张爽, 付士朋, 刘悦, 等. HPLC 法分析刺五加茎中原儿茶酸及苯丙素类成分动态累积规律研究[J]. 天然产物研究与开发, 2018, 30(8):1410-1414.

[14] 徐明远, 王谦博, 郭盛磊, 等. 培育年限对刺五加主要药用活性成分的影响[J]. 植物研究, 2019, 39(2):303-309.

[15] 朱建光, 王丰青, 谢彩侠, 等. 不同种质地黄块根菊花心表型性状及 HPLC 指纹图谱特征分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(12):166-173.

[16] 王悦云, 王雪飞, 刘娇, 等. 不同产地巫山淫羊藿指纹图谱的主成分、因子和聚类分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(7):165-172.

[17] 叶耀辉, 史毅, 张博文, 等. 不同产地北柴胡药材的 UPLC/Q-TOF-MS 指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2019, 25(18):124-129.

[18] 范卫锋, 郑兆广, 胡琴, 等. 丁香茄子的 HPLC 指纹图谱分析[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(20):66-70.

[责任编辑 顾雪竹]